

〔原著〕

*Porphyromonas gingivalis*無色突然変異株のバイオフィルム形成性鎌口 有秀<sup>1)</sup>, 岡本 公彰<sup>2)</sup>, 五十嵐英次<sup>1)</sup>, 藤田 真理<sup>1)</sup>, 宮川 博史<sup>1)</sup>, 中澤 太<sup>1)</sup>

1) 北海道医療大学歯学部口腔生物学系微生物学分野

2) 鶴見大学歯学部口腔細菌学教室

Study of the spontaneous non-pigmented variant of *Porphyromonas gingivalis* in biofilm formation

Arihide KAMAGUCHI\*, Masaaki OKAMOTO\*\*, Eiji IGARASHI\*, Mari FUJITA\*, Hiroshi MIYAKAWA\*, and Futoshi NAKAZAWA\*

\*Department of Microbiology, Division of Oral Biology, School of Dentistry, Health Sciences University of Hokkaido.

\*\*Department of Oral Bacteriology, School of Dental Medicine, Tsurumi University.

## Abstract

*Porphyromonas gingivalis* is one of the major aetiological agents involved in advanced adult periodontitis. An important factor of this organism in the complaint is thought to be its presence over long periods in the oral biofilm. But, the characteristics of *P. gingivalis* biofilm are not fully understood. To study the characteristics of *P. gingivalis* biofilm, this investigation obtained non-pigmented *P. gingivalis* variants(np8strain, np11strain)by subculturing in medium. The np11 strain formed more biofilm than the wild type and np8 strain. Aggregation activity of np11 strain was stronger than that of wild type and np8 strain. The SDS-PAGE protein profile of these cells showed that the amount of 17 kDa and 26 kDa proteins increased in only the np11 strain. These proteins were identified to be flavodoxin and 3-oxoacyl(acyl-carrier protein) reductase, respectively.

This study indicates that aggregation activity is correlated with biofilm formation of *P. gingivalis*. Factors related to the metabolic process, such as flavodoxin and 3-oxoacyl-(acyl-carrier protein) reductase, may also be related to the biofilm formation process of *P. gingivalis*.

Key words : *Porphyromonas gingivalis*, biofilm, non-pigmented variant

## 緒 言

*Porphyromonas gingivalis*は成人性歯周炎の主病原細菌の1つとされている。*P. gingivalis*は種々の病原因子を保有するが、その中でも主要な病原因子としてアルギニン特異的システインプロテアーゼ (RgpまたはArg-gingipain) とリジン特異的システインプロテアーゼ (KgpまたはLys-gingipain) がある。RgpとKgpはコラーゲンタイプIの分解、フィブロネクチンの分解 (Kadowaki et al., 1994; Abe et al., 1998), 免疫グロブリン (Kadowaki et al. 1994) やサイトカインの分解

(Calkins et al., 1998), 補体の破壊 (Wingrove et al. 1992), フィブリンやフィブリノーゲンに対する分解作用 (Imamura et al., 1995; Okamoto et al., 1998), 血液凝固因子に対する活性化能 (Imamura et al., 1997), protease activated receptorsの活性化能などが報告されている (Lourbakos et al., 2001)。また, *P. gingivalis*は糖を利用できないことより, タンパク質を分解し, ペプチドの形で取り込みエネルギー源として利用するためにもRgpとKgpが関与する。このことより, RgpとKgpは発育のためのエネルギー源の獲得においても重要な働きをする。また, *P. gingivalis*も発育に鉄イオン

受付:平成20年9月30日

を必要とするが、生体成分に結合した鉄結合物から鉄イオンを獲得するシドロフォアをもたないため、Rgp, Kgpならびアドヘジンドメインタンパク質複合体が赤血球の成分であるヘモグロビンから鉄イオンを獲得することにも関与していることが報告されている (Nakayama et al., 1998). *P. gingivalis*は血液寒天培地上では黒色のコロニーを形成することが大きな特徴であり、これは菌体表層にヘモグロビンを結合し、ヘムを蓄積することによる (Smalley et al., 1998). この*P. gingivalis*のコロニーの黒色化にもRgp, Kgpおよびアドヘジンドメインタンパク質が関与する。この現象は*P. gingivalis*が発育し、病原性を発揮する上でも重要なことである。

*P. gingivalis*は歯肉溝バイオフィーム形成菌の一員として長期間存在し、病原因子を産生することが本疾患の重要な要因の1つと考えられる (Slots et al., 1982)。しかし、*P. gingivalis*のバイオフィーム形成因子の詳細にはついては明確にされていない。

今回*P. gingivalis*の継代により無色突然変異株が出現した。この変異株の中に親株よりバイオフィーム形成性の増加した株が存在したことより、*P. gingivalis*のバイオフィーム形成因子の一端を明らかにするために、その性状について検討した。

## 実験方法

### 供試菌株と培養方法

*P. gingivalis* ATCC33277株, np 8 株, np11株をGAM培地またはTYHM (Tryptic soy broth 30g / L, Yeast extract 5g / L, Hemin 5 mg / L, Menadione 1 mg / L) 培地にて37℃で嫌気培養 (CO<sub>2</sub> (10%), H<sub>2</sub> (10%), N<sub>2</sub> (80%)) した。

### バイオフィーム形成性の測定方法

O'TooleとKolterの方法 (O'Toole and Kolter, 1998) に準じて、96well plateにてバイオフィーム形成性を検討した。*P. gingivalis* ATCC33277株, np 8 株, np11株をTYHM培地にて前培養後、希釈TYHM培地 (TYHM培地:PBS = 1 : 2) に前培養菌液を1/10量添加した菌液を96well plateに200μl添加し、嫌気培養した。培養後、各wellをsalineにて洗浄し、各wellにクリスタルバイオレット液を添加し、室温で15分放置後、再度salineで洗浄した。ついでエチルアルコールを加えクリスタルバイオレットを可溶化し、OD540nmの吸光度を測定した。

### SDS-PAGEとタンパク質バンドのN末端アミノ酸配列の解析方法

SDS-PAGEはLaemliの方法に従った (Laemmli, 1970)。タンパク質バンドのN末端アミノ酸配列の解析はSDS-PAGE後、ゲルをPVDF膜に転写し、Coomassie brilliant blueにて染色した。ついで、目的のバンドを切り出しアミノ酸シーケンサー (Procise492, Applied Biosystems) を用いてアミノ酸配列を決定した。また、この配列をBLAST searchにてホモロジー検索を行い、蛋白質とその遺伝子を検索した。

### Rgp活性の測定方法

菌体と培養上清のRgp活性は1 mM Nα-Benzoyl-DL-arginine *p*-nitro-anilide HClと10mM cystein HCl含有0.1 M Tris-HCl (pH7.4) 液800μl, 水1,700μlおよび試料20 μlを加え10分後のOD405nmを測定し、Δ405nm/min/mg proteinまたはΔ405nm/min/mlで活性を表した。タンパク質量の測定はDCprotein assay kit (Bio-RAD) を用いた。

### 統計処理の方法

統計処理はStudent's t testまたは分散分析後ポストホックテスト (Fisher's PLSD法) を行った。

## 結 果

### *P. gingivalis*の無色突然変異株の出現とその性状

*P. gingivalis* ATCC33277をGAM半流動寒天培地にて一夜培養した。ついで、4℃で7日間保存後、新たなGAM半流動寒天培地に接種、培養することを約20回繰り返した。この菌液をGAM血液寒天培地に塗抹した結果、黒色コロニーを形成する親株と共に無色のコロニーを形成する自然変異株が得られた (Fig. 1)。

### 親株と無色変異株のバイオフィーム形成性

得られた無色変異株と親株のバイオフィーム形成性を検討した結果、親株とバイオフィーム形成性が同程度の株と親株よりバイオフィーム形成性を強い株がみられた。前者の性状を示す株としてnp 8 株、後者の性状を示す株としてnp11株を今回の実験に供試した (Fig. 2)。np11株が96well plateに対して親株やnp 8 株よりバイオフィーム形成性が強いことは、96wellプレートに結合したバイオフィームのクリスタルバイオレット染色像と染色されたバイオフィームからのエチルアルコールにより溶出されたクリスタルバイオレット量から明となった

(A) *P. gingivalis* ATCC33277株



(B) *P. gingivalis* 継代培養株

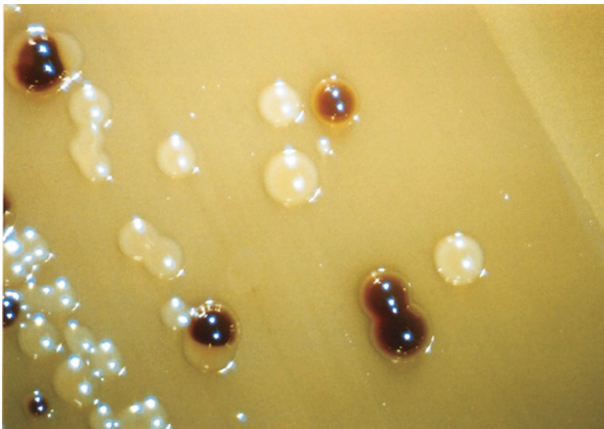


Fig. 1. *P. gingivalis* ATCC33277株と継代培養株の血液寒天培地上でのコロニー形態

(Fig. 3, 4).

### グラム染色像

親株, np 8株, np11株のバイオフィルム形成菌をピペettingによりwellより剥離した菌体と培養上清菌をグラム染色後観察した. バイオフィルム形成菌はいずれの菌体も大きな菌塊が観察されたが, np11株の菌塊の周囲に連鎖する菌体が観察された (Fig. 5). *P. gingivails* np 11株の培養上清の菌体は他の2株の菌体より長く連鎖している菌体が見られた (Fig. 6). このことより, np11株は他の株より菌体の性状が異なることが観察された.

### タンパク質発現

np11株は親株, np 8株よりバイオフィルム形成性が強くみられたことより, np11株は他の菌株とは異なる物質を発現している可能性が示唆された. そこで, これらの菌体のSDS-PAGEを行い発現タンパク質の違いを比較した. その結果, np11株においてAとBのバンドがより多く産生されていた. この2つのバンドのN-末端アミノ酸分析を行いBLAST Searchにて該当するタンパク質を検索したところバンドAはflavodoxin, バンドBは3-

(A) *P. gingivalis* np8株



(B) *P. gingivalis* np11株



Fig. 2. *P. gingivalis* np 8株とnp11株の血液寒天培地上でのコロニー形態.

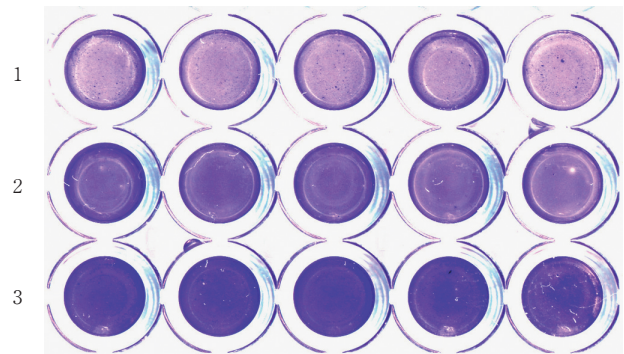


Fig. 3. *P. gingivalis* ATCC33277株, np 8株, np11株の96well plateに形成されたバイオフィルムのクリスタルバイオレット染色像. 1: ATCC33277株, 2: np 8株, 3: np11株.

oxoacyl- (acyl-carrier protein) reductaseであった (Fig. 7, Table 1).

### 凝集性

1日培養後, 培養液中での凝集性を観察した. np11株は菌体の沈殿が多くみられ, 凝集性が強いことが観察された (Fig. 8). この結果, np11株は菌体表面の物質に違いがある可能性が示唆された.



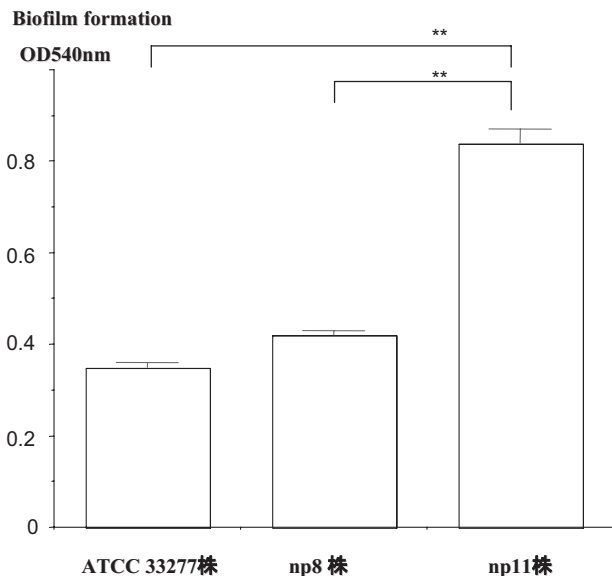


Fig. 4. *P. gingivalis* ATCC33277株, np 8株, np11株のクリスタルバイオレット染色バイオフィームからエタノールにより溶出されたクリスタルバイオレット量.  
\*\* : P<0.05, N=3.

**Rgp活性**

親株, np11株それぞれの菌体と培養上清のRgp活性を測定した. その結果, 親株の菌体のRgp活性は高く, 培養上清のRgp活性は低いことが観察された. 一方, np11株では菌体のRgp活性は低く, 培養上清のRgp活性が高いことが観察された (Fig. 9). ついで, 培養上清のSDS-PAGEを行いRgpの量を検討した結果, 親株と比較し, np11株の培養上清にはRgpのタンパク質量が多いことが観察された (Fig. 10). このことからこの実験で得られた無色突然変異株は菌体表層に保有するRgpが減少

(A) *P. gingivalis* ATCC 33277株

(B) *P. gingivalis* np8株

(C) *P. gingivalis* np11株

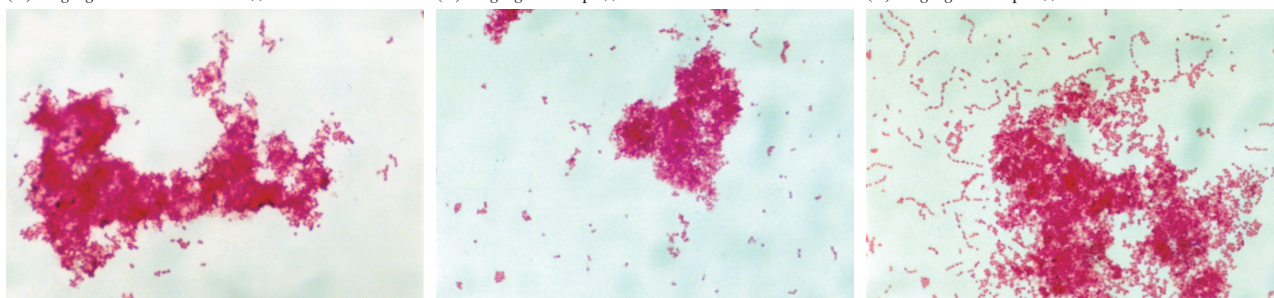


Fig. 5. *P. gingivalis* ATCC33277, np 8株, np11株のバイオフィーム形成菌のグラム染色像.

(A) *P. gingivalis* ATCC 33277株

(B) *P. gingivalis* np8株

(C) *P. gingivalis* np11株

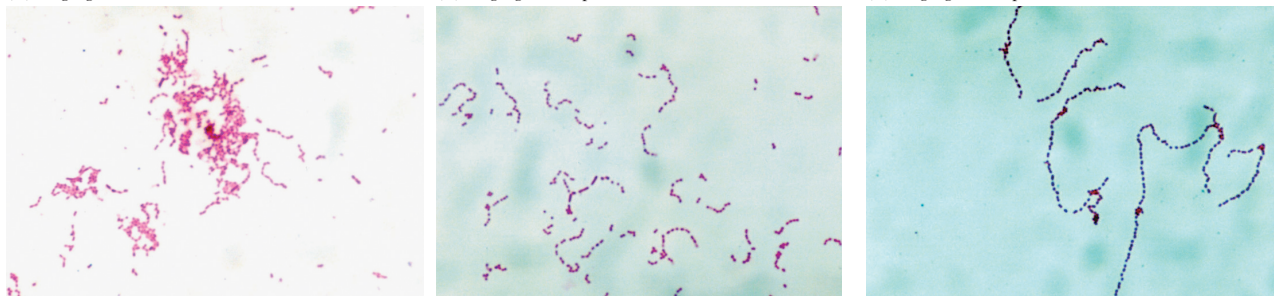


Fig. 6. *P. gingivalis* ATCC 33277株, np 8株, np11株の浮遊菌のグラム染色像.

し, 菌体外により多く遊離したことが確認された.

**考 察**

*P. gingivalis*が血液寒天培地上で黒色のコロニーを形成することは大きな特徴であるが, GAM半流動寒天培地にて継代を繰り返すことにより, 自然突然変異により無色コロニーが出現した. *P. gingivalis*が黒色のコロニーを呈する機構は菌体表層にヘムを蓄積することによると報告されていることより (Smalley et al., 1998), 無色のコロニーは菌体表層の物質に何らかの変化が生じ, ヘムを蓄積できなくなった結果と思われた. 菌体表層の物質の変化が*P. gingivalis*のバイオフィーム形成性に対して影響するか検討したところ, 親株と同程度のバイオフィーム形成性を示す菌株 (np 8株) と親株よりバイオフィーム形成性が強い菌株 (np11株) が存在した. このことは, 菌体のヘムの蓄積に関係する変異とバイオフィーム形成性に関与する変異が別々に生じたものと思われた.

親株, np 8株, np11株のバイオフィーム形成菌のグラム染色像ではいずれも菌塊が形成されているが, np11株の周囲には連鎖した菌体が観察され, さらに, 浮遊菌のグラム染色像において, np11株は長く連鎖する傾向がみられた. *Escherichia coli*等において菌体が長く連鎖する菌株は自己融解酵素群の一部の活性に変化あることが報告されている (Heidrich et al., 2001). そこで, 親株と np11株の増殖曲線を比較したところ, np11株は自己融解



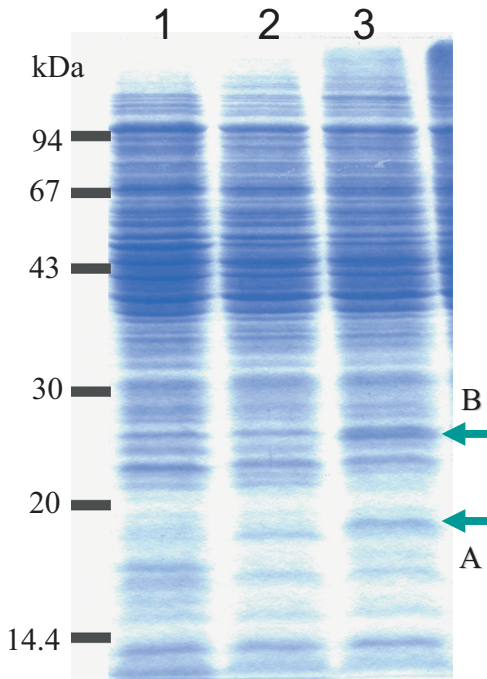


Fig. 7. *P. gingivalis* ATCC33277, np 8 株, np11 株の菌体の SDS-PAGE パターン.  
レーン1: ATCC33277株, レーン2: np 8 株, レーン3: np11株.

による菌の濁度の低下が遅くなることが観察された (data not shown). このことより, np11株においては自己融解酵素の活性にも変化が生じた可能性が示唆された. また, np11株は培地中で凝集性が強く, 菌体が多く沈殿することが観察された. これらのことはバイオフィーム形成性が他の菌株より強くみられることと関連している可能性が示唆された.

これまで, *P. gingivalis* のバイオフィーム形成に関与するとされる幾つかの因子が報告されている. Chenら (2002) は polyphosphate kinase (PPK) gene (*ppk*) の変異株はバイオフィーム形成性と stationary-phase における生存が低下することを報告している. PPK はグラム陽性, 陰性菌に広く存在し, 栄養状態, 環境ストレスや stationary phase での生存などに重要な役割をしていると考えられている (Rao and Kornberg, 1996; Shiba et al., 2000). Capestanyら (2006) によると internalin protein family の InIJ の変異株は *P. gingivalis* 単独でのバイオフィーム形成性を減少させ, *P. gingivalis* と *Streptococcus gordonii* のバイオフィーム形成性を増加させるとしている. また, Capestanyら (2008) はストレス応答システ

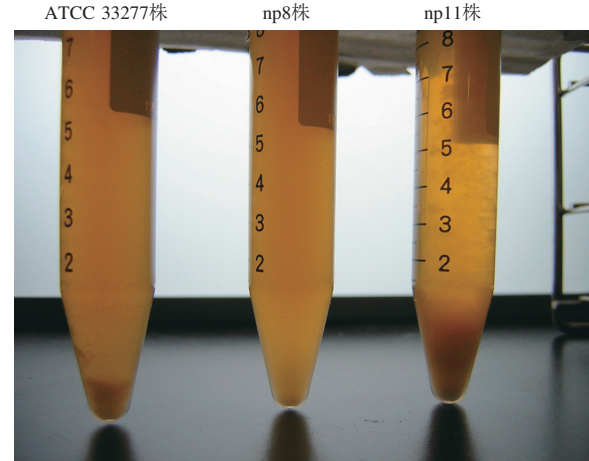


Fig. 8. *P. gingivalis* ATCC33277 株, np 8 株, np11 株の液体培地で培養後の凝集性.

ムの 1 つである Clp システムの中の *clpC* と *clpXP* の変異株は *P. gingivalis* の単独のバイオフィーム形成性を増加し, *clpXP* の変異株は *P. gingivalis* と *Streptococcus gordonii* とのバイオフィーム形成性を増加するとしている.

Chenら (2006) は Universal stress protein の遺伝子の *upsA* の変異株は *P. gingivalis* のバイオフィーム形成性が低下することより, バイオフィーム形成に関与すると示唆している. Angら (2008) は *P. gingivalis* のバイオフィーム形成菌と浮遊菌のプロテオーム解析を行い, バイオフィーム形成菌においては 24 のタンパク質の増加がみられ, 18 のタンパク質の減少がみられることを示した. 増加したタンパク質の中に RgpA, HagA, CPG70, HmuY, HhtB FrdAB, internalin family protein 等があり, これらの内のいずれかの関与が示唆されている. この様にいくつかのバイオフィーム形成に関与すると想定される因子が報告されているが, *P. gingivalis* のバイオフィーム形成に関与する明確な因子については明らかにされていない.

今回得られた np 8 株, np11 株と親株の菌体の SDS-PAGE におけるタンパク質バンドのパターンを比較したところ, 親株と np 8 株と異なる np11 株のバンドとして 2 つのバンドがみられ, それは flavodoxin と 3-oxoacyl-(acyl-carrier protein) reductase であった. flavodoxin はエネルギー産生系に, 3-oxoacyl-(acyl-carrier protein) reductase は脂質合成系に関与する酵素である. これらの因子のバイオフィーム形成性への関与はこれまで報告されていないが, これらはバイオフィーム形成性が

Table 1. SDS-PAGE におけるバンド A とバンド B の N-末端アミノ酸配列と対応するタンパク質.

Protein band	N-terminal amino acid sequence determined					Gene product
Band A	1	5	10	15	20	flavodoxin (17 kDa)
	M K S I G I F Y G S S T G T T S D L A Q					
Band B	1	5	10	15		3-oxoacyl-(acyl-carrier protein) reductase (26 kDa)
	M K L L E N K V A L I T G A G R					

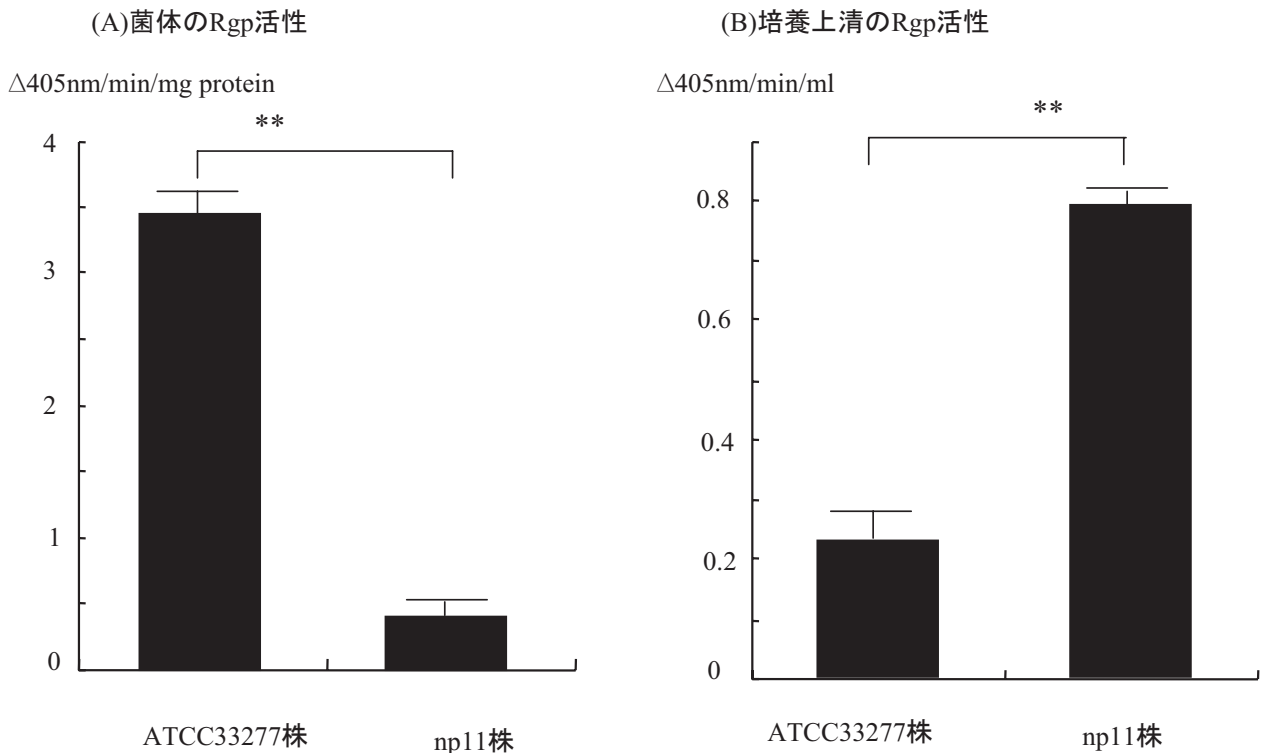


Fig. 9. *P. gingivalis* ATCC33277株とnp11株の菌体と培養上清のRgp活性.  
\*\* :  $P < 0.05$ ,  $N = 3$ .

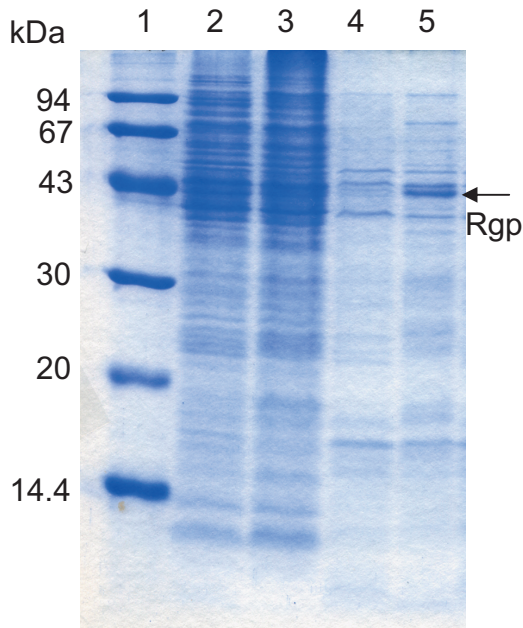


Fig. 10. *P. gingivalis* ATCC33277株とnp11株の菌体と培養上清のSDS-PAGEパターン.

レーン1：分子量マーカー，レーン2：ATCC33277株の菌体，  
レーン3：np11株の菌体，レーン4：ATCC33277株の培養上清，  
レーン5：np11株の培養上清。

強い株に強く発現していることより，*P. gingivalis*のバイオフィーム形成に何らかの関与をしている可能性が示唆された。

Shojiら（2002）は*P. gingivalis*にトランスポゾン挿入することにより無色変異株が得られ，この変異株は菌体のRgp活性は弱く，培養上清にRgp活性が強くみられ

ると報告している。親株とnp11株の菌体および培養上清のRgp活性を測定したところnp11株の菌体のRgp活性は弱く，np11株の培養上清にRgp活性が強くみられた。また，親株とnp11株の培養上清のSDS-PAGEによるタンパク質パターンよりRgpに相当する44kDaタンパク質の増加がnp11株においてみられた。さらに，Kgpに相当する51kDaタンパク質バンドの若干の増加がnp11株の上清において観察された。これらの性状はShojiら（2002）のトランスポゾンによる変異株の結果と類似している。Shojiら（2002）の実験においてトランスポゾンは*porR*遺伝子内に挿入されており，*porR*遺伝子の変異の結果とされている。*porR*は細胞表面のpolysaccharideとamino-glycosideの糖部分の生合成に関与するtransamidaseの遺伝子とされている。Shojiら（2002）は*porR*が変異したことにより外膜においてRgp，Kgpおよびアドヘジドメインタンパク質複合体のアンカーの役割をしているpolysaccharideに変化が生じ，これら複合体を外膜上に保持できず培養上清に遊離されたものと推察している。通常Rgp，Kgpおよびアドヘジドメインタンパク質は複合体を形成し，外膜上に糖鎖により結合している。また，アドヘジドメインタンパク質の中のHgp15はヘモグロビンレセプターとして働き，また，ヘムの蓄積に作用するとNakayamaら（1998）により報告されている。これらのことより，今回得られたnp11株等はRgp，Kgpおよびアドヘジドメインタンパク質複合体を外膜上に

保持する糖鎖に何らかの変異がおき、Hgp15もこれらの複合体と共に遊離したことが無色のコロニーになった原因と推察された。

近年、バイオフィーム形成菌は浮遊菌といくつかの性状が異なることが知られており、バイオフィーム形成菌の物理的要因の他に浮遊菌と遺伝子発現が相違することが報告されている (Whiteley et al., 2001). 遺伝子発現の相違を網羅的に検討するにはプロテオーム解析やmicro arrayによる解析が必要となる。これらの解析をするには比較的多くの菌量を必要とする。浮遊菌は多くの菌体を集めることは容易であるが、*P. gingivalis*のバイオフィーム形成菌を多く集めることはなかなか困難である。今回のnp11株はバイオフィーム形成性が親株より良好であることより、バイオフィーム形成菌を集め、これらの解析に供試する上でも有用な菌株でもあった。

## 結 論

*Porphyromonas gingivalis*は成人性歯周炎の主要な原因菌と1つである。この菌の重要な病原因子の1つに口腔内バイオフィーム形成菌の一員として長期存在することがある。しかし、*P. gingivalis*のバイオフィームの性状については明確にされていない。*P. gingivalis*のバイオフィームの性状を検討するために*P. gingivalis*を継代することより得られた無色変異株 (np 8株とnp11株)を用いた。np11株は親株とnp 8株より強いバイオフィーム形成性を示した。np11株の凝集性は親株とnp 8株より強くみられた。これらの菌体のSDS-PAGEによるタンパク質バンドの比較において、17 kDaと26 kDaのバンドがnp 11株にのみ強く発現していた。これらのバンドはそれぞれflavodoxinと3-oxoacyl (acyl-carrier protein) reductaseであった。

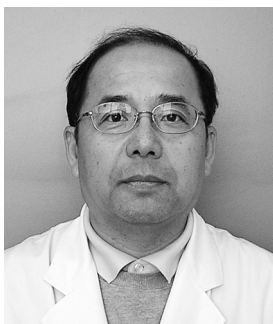
これらのことより、凝集性と代謝過程に関与するflavodoxinと3-oxoacyl (acyl-carrier protein) reductaseはバイオフィーム形成性に関与する可能性が示唆された。

## 文 献

- Abe N, Kadowaki T, Okamoto K, Nakayama K, Ohishi M and Yamamoto K. Biochemical and functional properties of lysine-specific cysteine protease (Lys-gingipain) as a virulence factor of *Porphyromonas gingivalis* in periodontal disease. *J Biochem* 123 : 305-312, 1998.
- Ang C-S, Veith PD, Dashper SG and Reynolds EC. Application of 160/180 reverse proteolytic labeling to determine the effect of biofilm culture on the cell envelope proteome of *Porphyromonas gingivalis* W50. *Proteomics* 8 : 1645-1660, 2008.
- Calkins CC, Platt K, Potempa J and Travis J. Inactivation of tumor necrosis factor- $\alpha$  by preteinses (gingipains) from the periodontal pathogen, *Porphyromonas gingivalis*. *J Biol Chem* 273 : 6611-6614, 1998.
- Caestany CA, Kuboniwa M, Jung I-Y, Park Y, Tribble D and Lamont RJ. Role of the *Porphyromonas gingivalis* InlJ protein in homotypic and heterotypic biofilm development. *Infect Immun* 74 : 3002-3005, 2006.
- Caestany CA, Tribble GD, Maeda K, Demuthi DR and Lamont RJ. Role of the Clp system in stress tolerance, biofilm formation and intercellular invasion in *Porphyromonas gingivalis*. *J Bacteriol* 190 : 1436-1446, 2008.
- Chen W, Honma K, Sharma A and Kuramitsu HK. A universal stress protein of *Porphyromonas gingivalis* is involved in stress responses and biofilm formation. *FEMES Microbiol Lett* 264 : 15-21, 2006.
- Chen W, Palmer RJ, and Kuramitsu HK. Role of polyphosphate kinase in biofilm formation by *Porphyromonas gingivalis*. *Infect Immun* 70 : 4708-4715, 2002.
- Heidrich C, Templin M F, Ursinus A, Merdanovic M, Berger J, Schwarz H, Pedro MA and Holtje J-V. Involvement of N-acetylmuramyl-L-alanine amidases in cell separation and antibiotic-induced autolysis of *Escherichia coli*. *Mol Microbiol* 41 : 167-178, 2001.
- Imamura T, Potempa J, Pike RN, Moore JN, Barton MH and Travis J. Effect of free and vesicle-bound cysteine proteinases of *Porphyromonas gingivalis* on plasma clot formation : implications for bleeding tendency at periodontitis sites. *Infect Immun* 63 : 4877-4882, 1995.
- Imamura T, Potempa J, Tanase S and Travis J. Activation of blood coagulation factor X by arginine-specific cysteine proteinases (gingipain Rs) from *Porphyromonas gingivalis*. *J Biol Chem* 272 : 16062-16067, 1997.
- Kadowaki T, Yoneda M, Okamoto K, Maeda K and Yamamoto K. Purification and characterization of a novel arginine-specific cysteine protease (argngipain) involved in the pathogenesis of periodontal disease from the culture supernatant of *Porphyromonas gingivalis*. *J Biol Chem* 269 : 21371-21378, 1994.
- Laemmli UK. Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. *Nature* 227 : 680-685, 1970.
- Lourbakos A, Potempa J, Travis J, D'Andrea MR, Andrade-Grond P, Santulli R, Mackie EJ and Pike RN. Arginine-specific protease from *Porphyromonas gingivalis* activates protease-activated receptors on human oral epithelial cells and induces interleukin-6 secretion. *Infect Immun* 69 : 5121-5130, 2001.
- Nakayama K, Ratnayake DB, Tsukuba T, Kadowaki T, Yamamoto K, and Fujimura S. Haemoglobin receptor protein is intragenically encoded by the cysteine proteinase-encoding genes and the haemagglutinin-encoding gene of *Porphyromonas gingivalis*. *Mol Microbiol* 27 : 51-61, 1998.
- O'Toole GA and Kolter R. Initiation of biofilm formation in *Pseudomonas fluorescens* WCS365 proceeds via multiple, convergent signaling pathways : a genetic analysis. *Mol Microbiol* 28 : 449-461, 1998.
- Okamoto K, Nakayama K, Kadowaki T, Abe N, Ratnayake DB and Yamamoto K. Involvement of a lysine-specific cysteine proteinase in hemoglobin adsorption and heme accumulation by *Porphy-*



- romonas gingivalis*. J Biol Chem 273 : 21225–21231, 1998.
- Rao NN and Kornberg A. Inorganic polyphosphate supports resistance and survival of stationary-phase *Escherichia coli*. J Bacteriol 178 : 1394–1400, 1996.
- Shiba T, Tsutsumi K, Ihige K and Noguchi T. Inorganic polyphosphate and polyphosphate kinase : their novel biological functions and applications. Biochemistry 65 : 315–323, 2000.
- Shoji M, Ratnayake DB, Shi Y, Kadowaki T, Yamamoto K, Yoshimura F, Akamine A, Curtis MA and Nakayama K. Construction and characterization of a nonpigmented mutant of *Porphyromonas gingivalis* : cell surface polysaccharide as an anchorage for gingipains. Microbiol 148 : 1183–1191, 2002.
- Slots J. Importance of black-pigmented Bacteroides in human periodontal disease. In : Genco RJ and Mergerhagen SE, editors. Host-Parasite Interactions in Periodontal Disease. American Society for Microbiology, 1982, p27–45.
- Smalley JW, Silver J, Marsh PJ, and Birss A. The periodontopathogen *Porphyromonas gingivalis* binds iron protoporphyrin IX in the  $\mu$ -oxo dimeric form : an oxidative buffer and possible pathogenic mechanism. Biochem J. 331 : 681–685, 1998.
- Whiteley M, Banger G, Bumgarner RE, Parsek MR, Teitzel GM, Lory S and Greenberg E P. Gene expression in *Pseudomonas aeruginosa* biofilms. Nature 413 : 860–864, 2001.
- Wingrove JA, DiScipio RG, Chen Z, Potempa J, Travis J and Hugli TE. Activation of complement components C3 and C5 by a cysteine proteinase (gingipain-1) from *Porphyromonas (Bacteroides) gingivalis*. J Biol Chem 267 : 18902–18907, 1992



鎌口有秀

北海道医療大学歯学部口腔生物学系微生物学分野

## 略歴

昭和54年 3月 東北薬科大学大学院博士課程修了  
 昭和54年 4月 東日本学園大学（現 北海道医療大学）歯学部口腔細菌学教室助手  
 昭和60年 同教室 講師  
 昭和61年 同教室 助教授  
 平成4年 5月 Saskatchewan州立大学歯学部（カナダ）に留学（平成5年4月まで）  
 平成19年 4月 同教室 准教授  
 現在に至る。

## 所属学会

日本細菌学会  
 歯科基礎医学会  
 北海道医療大学歯学会